临床研究

血小板参数与肾移植术后急性排斥反应的关系

付绍杰[1],梁永杰[1],于立新[1],罗 敏[2],王亦斌[1],杜传福[1],叶俊生[1],肖露露[1]
南方医科大学南方医院[1]器官移植科,[2]检验科,广东 广州 510515

摘要:目的 探讨血小板计数(PLT)、血小板比容(PCT)、平均血小板体积(MPV)、血小板体积分布宽度(PDW)、大血小板比率(P-LCR)五项参数与肾移植术后早期急性排斥反应(AR)的关系。**方法** 回顾分析167例肾移植受者术后2个月内血小板五项参数的动态变化。以同期发生AR的35例受者为观察组,移植肾功能恢复良好的132例受者为对照组,检测术前及术后1~10、15、30、45、60 d血小板五项参数,进行统计学分析。**结果** AR组与对照组比较:术前PLT、PCT、MPV、P-LCR两组均数无统计学差异(P>0.05),AR组术前PDW数值明显高于对照组(t=2.18, P=0.035)。术后第1~5天两组血小板5项参数均无统计学差异(P>0.05),但术后第6~15天AR组中MPV、PDW、P-LCR三项指标明显高于对照组(P<0.05)。并且,AR组受者术后第6~9天MPV、PDW、P-LCR三项指标数值基本呈平稳趋势,而对照组则呈下降趋势,两组变化存在明显差异(P<0.05)。**结论** 肾移植受者术前PDW数值可能与术后AR的发生呈正相关;术后监测MPV、PDW、P-LCR三项指标的变化趋势,可作为诊断AR发生的一种辅助方法。
关键词:血小板;肾移植;急性排斥反应

The correlation between platelet parameters and acute rejection after renal transplantation

FU Shaojie[1], LIANG Yongjie[1], YU Lixin[1], LUO Min[2], WANG Yibin[1], DU Chuanfu[1], YE Junsheng[1], XIAO Lulu[1]
Department of Organ Transplantation[1], Department of Clinical Laboratory[2], Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between acute graft rejection early after renal transplantation and the variations of platelet parameters. **Methods** We retrospectively analyzed the clinical data of 167 renal transplant recipients before and within 2 months after the surgery. Before and at 1-10 days, 15 days, 30 days, 45 days and 60 days after the transplantation, 5 platelet parameters, including platelet count (PLT), platelet hematocrit (PCT), mean platelet volume (MPV), platelet volume distribution width (PDW), and large platelet ratio (P-LCR), were detected in the 35 patients with acute graft rejection within two months (AR group) and in the other 132 recipients with good graft recovery (control group). **Results** The AR group and control group showed no significant difference in PLT, PCT, MPV, or P-LCR before the surgery, but the PDW was significantly higher in the AR group (t=2.18, P=0.035). These parameters were similar within 5 postoperative days between the two groups (P>0.05), but in postoperative days 6-15, the AR group showed significantly increased MPV, PDW and P-LCR compared with the control group (P<0.05). In postoperative days 6-9, MPV, PDW and P-LCR became stable in AR group but tended to decrease in the control group, showing obviously different patterns of variation between the two groups (P<0.05). **Conclusions** Preoperative PDW may have a positive correlation with acute graft rejection after renal transplantation. Monitoring the variations of MPV, PDW and P-LCR may help in the diagnosis of acute graft rejection early after renal transplantation.
Key words: platelets; renal transplantation; acute graft rejection

肾移植是终末期肾功能衰竭最佳的治疗手段,术后急性排斥反应(acute rejection, AR)的发生是常见的并发症,AR的及时诊断和治疗可明显提高肾移植的成功率和移植物的远期存活率。有报道指出[1],许多细胞因子,如白细胞介素IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、干扰素(IFN-γ)、肿瘤坏死因子(TNF)等,常作为AR发生的早期诊断指标;但其检测难度大、成本高,均难以在临床中广泛开展。我们在临床工作中发现肾移植受者在术后早期外周血中血小板参数变化非常明显,发生AR的受者与移植肾功能恢复良好的受者相比,血小板参数变化曲线有显著差异。本研究回顾性观察分析167例肾移植受者移植前和移植后2个月内的外周血中血小板数量(platelet count, PLT)、血小板比容测定(platelet hematocrit, PCT)、平均血小板体积(average platelet volume, MPV)、血小板体积分布宽度(platelet volume distribution width, PDW)和大型血小板比值(large platelet ratio, P-LCR)五项参数的变化,探讨血小板五项参数变化与肾移植术后早期AR发生的关系,现报告如下。

收稿日期:2014-10-02
基金项目:广东省科技计划项目(2012B031800390);广州市白云区科技项目(2012-kz-83)
作者简介:付绍杰,教授,主任医师,硕士生导师,E-mail: fusaoj@medmail.com.cn
通信作者:于立新,教授,主任医师,博士导师,E-mail: Yulxin@medmail.com.cn

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾分析2009年1月~2013年12月本院167例肾移植受者术后2个月内的临床资料。其中男性116例,女性51例,年龄14~67岁,平均40.6岁。167例供肾均为尸体供肾,冷缺血时间小于15 h,热缺血时间小于8 min;供受者ABO血型相符,淋巴毒实验均阴性,HLA配型检测A、B、DR三个位点,错配1~4个位点;所有受者术前群体反应性抗体(PRA)检测均阴性,术前均接受每周三次规律血液透析。

免疫抑制剂应用方案:术后均采用静脉滴注抗人胸腺淋巴细胞球蛋白(ATG)+甲基强的松龙(MP)冲击免疫诱导。所有受者均口服他克莫司(Tac)+霉酚酸酯(MMF)+醋酸泼尼松(Pred)三联抗排斥药物方案。

AR的诊断标准:①临床表现为尿量明显减少、血压升高、发热、移植肾区胀痛;②实验室检查血肌酐明显升高;③移植肾彩色多普勒超声检查移植肾各级动脉血管阻力指数升高(RI>0.75)[2-3];④移植肾细针穿刺活检病理检查符合AR的Banff病理分类标准[4]。

排除标准:术后2个月内出现各种感染者,因出血倾向输注过血小板或注射重组人血小板生成素治疗者。

观察组及对照组:以术后2个月内发生AR的35例受者为观察组,同期移植肾功能恢复良好的132例受者为对照组。出现AR的患者给予加强MP、ATG等药物的抗排斥治疗。

1.2 检测方法

取受试者术前及术后第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、30、45、60天外周静脉血各2 ml,乙二胺四乙酸二钾抗凝,采用Sysmex XE2100型全自动血液分析仪及配套进口试剂对血小板参数进行测定。

1.3 统计学处理

所有检测数据用均数±标准差表示,采用SPSS13.0统计软件,组间比较采用单因素方差分析,两组均数比较采用t检验。

2 结果

2.1 肾移植术后2个月内血小板五项参数分别在AR组与对照组中的变化特征(图1)

与术前比较,AR组中PLT、PCT在术后第1天开始下降,第6天降至最低($P<0.05$),第15天升至最高($P>0.05$),第30、45、60天接近术前水平($P>0.05$);MPV、PDW、P-LCR则从术后第1天开始升高,第6~9天升到最高($P<0.05$),术后第30天下降至术前水平($P>0.05$);术后第60天PDW高于术前水平($P<0.05$)。对照组中PLT、PCT在术后第1天开始下降,第5天降至最低($P<0.05$),第15天又升至最高($P<0.05$),第30天恢复到术前水平($P>0.05$);MPV、PDW、P-LCR则从术后第1天开始升高,第5~6天升到最高($P<0.05$),然后逐渐下降,第15天恢复至接近术前水平($P>0.05$);术后第45、60天,PDW仍维持术前水平($P>0.05$),MPV及P-LCR则高于术前水平($P<0.05$)。

2.2 肾移植术后2个月内血小板5项参数在AR组与对照组中的比较(表1、图1)

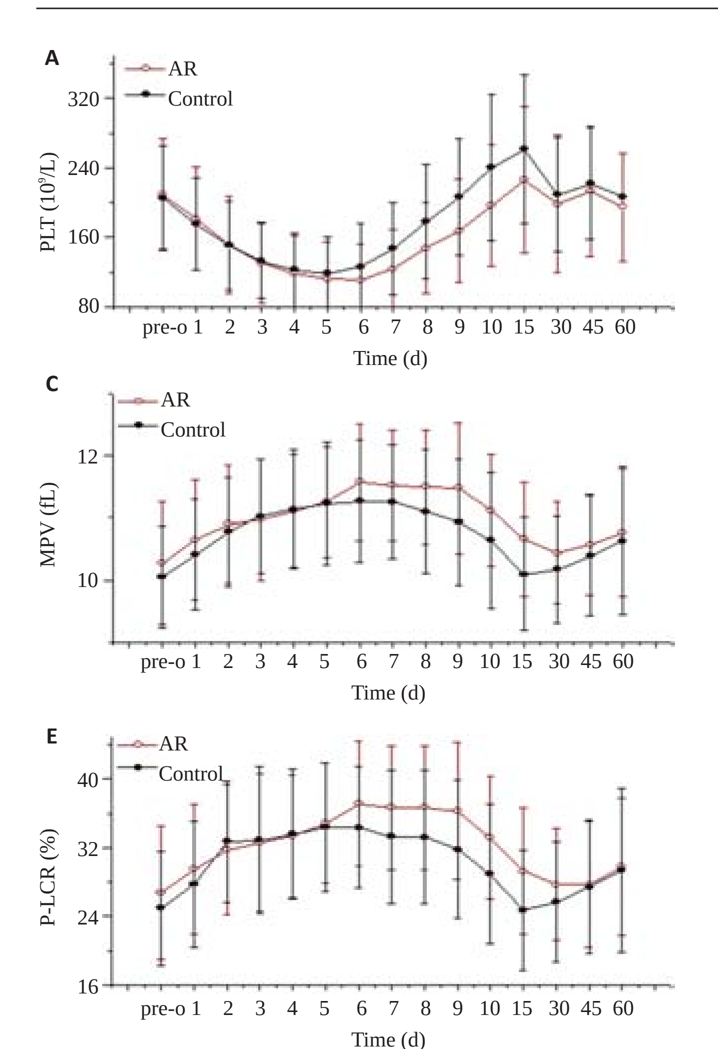
AR组与对照组之间比较,术前PLT、PCT、MPV、P-LCR两组间均数无统计学意义($P>0.05$);而AR组术前PDW数值明显高于对照组,差异有统计学意义(t=2.18,P=0.035),提示术前肾移植受者PDW可能与术后早期急性排斥反应的发生呈正相关。术后第1~5、45、60天,两组5项指标均数差异均无统计学意义($P>0.05$),两组比较有统计学意义($P<0.05$)的观察指标及天数如下:PLT(术后第6~10、15天),PCT(术后第7、9、10天),MPV(术后第6~10、15、30天),PDW(术后第6~10、15天),P-LCR(术后第6~10、15天)。AR组术后第6~9天MPV、PDW、P-LCR三项指标数值明显高于对照组且基本呈平稳趋势,而对照组3项指标数值则呈下降趋势,两组中血小板参数的动态变化存在明显差异($P<0.05$)。

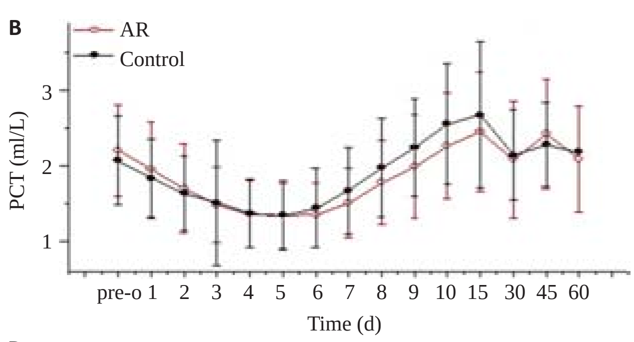
表1 肾移植术前和术后第5~15天三项血小板参数在AR组与对照组中的比较

Tab.1 Comparison of 3 platelet parameters between AR group and control group before and after transplantation (*Mean±SD*)

Time	MPV(fL)		PDW(fL)		P-LCR(%)	
	AR group	Control group	AR group	Control group	AR group	Control group
Preoperative day 0	10.29±1.04	10.04±0.82	11.85±1.90*	11.10±1.51	26.73±7.80	24.92±6.67
Postoperative day 5	11.27±0.87	11.22±0.95	13.89±2.27	13.57±2.64	34.85±7.03	34.39±7.50
Postoperative day 6	11.60±0.92*	11.21±0.94	14.18±2.16*	13.30±2.03	37.09±7.29*	34.33±7.09
Postoperative day 7	11.54±0.88*	11.19±0.87	14.34±2.20*	13.49±2.08	36.67±7.25*	33.26±7.75
Postoperative day 8	11.52±0.91*	11.04±1.02	14.24±2.03*	13.31±2.34	36.67±7.26**	33.22±7.75
Postoperative day 9	11.50±1.02**	10.76±0.97	14.44±2.65**	12.73±2.35	36.29±8.01**	31.82±8.04
Postoperative day 10	11.12±0.94**	10.44±1.01	13.21±2.03**	12.13±2.50	33.14±7.13**	28.90±8.15
Postoperative day 15	10.66±0.93**	10.08±0.89	12.59±2.70**	11.03±1.73	29.25±7.33**	24.68±7.00

AR *vs* control, **$P<0.01$, *$P<0.05$.





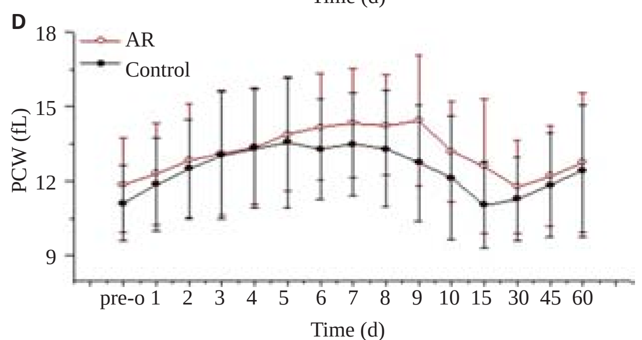


图1 肾移植术后2个月内AR组受者与对照组受者血小板5项参数曲线变化的比较

Fig.1 Comparison of the variations of 5 platelet parameters between AR and control groups in 2 month after renal transplantation. *A*: PLT; *B*: PCT; *C*: MPV; *D*: PDW; *E*: P-LCR.

3 讨论

肾移植术后AR的发生是一种炎症反应的过程。Banff病理分类方法强调，移植肾动脉内膜炎是AR的基本病变[4]，而血小板的活化在动脉内膜炎的炎症反应过程中扮演重要角色[5]。国内外均有学者利用血小板表面糖蛋白IIIa(CD61)、溶酶体酶糖蛋白(CD63)和抗纤维蛋白原受体单抗(PAC-1)等血小板活化标志物检测肾移植术后AR中血小板的活化水平[6-7]，但血小板参数与术后早期AR的关系却未见报道。

临床上血小板检测指标包括PLT、PCT、MPV、PDW和P-LCR。PLT是血小板的数量，反映血小板的生成和衰亡的动态平衡；PCT是血小板比容，反映单位容积的全血中血小板所占的比例；MPV代表平均血小板体积大小，PDW反映MPV的差异程度；P-LCR是大血小板所占比率[8]。当机体因炎症反应出现血小板活化时，PLT、PCT下降，MPV、PDW、P-LCR增加，体积大和差异程度高的血小板含有更多的颗粒和更高的活性[9-10]。活化的血小板分泌一系列的炎症物质，如趋化因子、细胞因子等，以促进血小板的聚集、粘附和血栓形成。血小板粘附在损伤的血管内皮，释放血栓素、白三烯、血小板活化因子和血小板源生长因子。这些因子是血管内皮损伤的急性和慢性排斥的重要的中介因子[11]，使得血管内皮损伤与血小板活化相互增强和反复放大，形成“瀑布式”的凝血效应。

MPV和PDW已被证实与许多导致血小板活化的疾病密切相关[12-14]。嘉红云等[13]报道，MPV和PDW在心肌梗死患者和脑梗死患者中的表达水平明显高于健康对照组，它们是血栓性疾病所致血小板活化的重要检测指标。施嫣红等[14]报道，缺血性结肠炎(IC)患者MPV和PDW明显高于正常人群，而重症IC患者中血小板活化指标(MPV、PDW等)明显高于轻症IC患者。显然，MPV和PDW是提示许多疾病过程中血小板活化的重要指标。然而，Vagdatli等[15]认为在提示血小板活化水平方面，PDW比MPV更具特异性。Vagdatli等随机挑选了35名患者采集血标本，并分别在1、2、3、4 h后测定其中MPV和PDW数值。结果发现，MPV随着储血时间延长逐渐增加，而PDW却逐渐下降。显然，标本储血时间的延长会使MPV出现假阳性结果，而PDW则能更准确地衡量血小板的活化水平。国内学者李月等[16]对100名志愿者重复了该项实验，也得出了相似的结论。本研究中未发现两组受者术前MPV有明显差异，但AR组受者术前PDW明显高于对照组，说明术前

血小板活化水平更高的肾移植受者发生急性排斥反应的可能性更大，这可能与受者术前接受血液透析后表现出不同的血小板活化水平相关[12]。

本研究还发现，MPV、PDW、P-LCR三项指标曲线变化基本一致，术后第6~15天AR组3项指标数值明显高于对照组，这与AR组受者临床发病的时间基本吻合，因此MPV、PDW和P-LCR可以作为提示肾移植术后急性排斥反应过程中血小板活化的重要指标。另外，我们从点线图中看到（图1C~E），AR组受者术后第6~9天MPV、PDW、P-LCR三项指标数值基本呈平稳趋势，且均高于术后第5天；而对照组则呈下降趋势，且均低于术后第5天；这种截然不同的变化趋势可以作为诊断AR发生的一种简便辅助方法。此外，尽管我们发现两组受者PLT和PCT曲线有统计差异的天数大多也在术后第6~15天，但PLT和PCT两项指标数值却均呈上升趋势（图1A，B）。由于肾移植受者个体体质存在差异，血小板参数基础数值并不统一，两组受者PLT和PCT相似的变化趋势难以作为判断AR发生的方法。

由于血小板参数容易受免疫抑制方案影响，本研究中所有肾移植受者均采用ATG+MP免疫诱导，口服Tac+MMF+Pred抗排斥治疗，若更换免疫抑制方案，血小板曲线可能会发生变化，下阶段研究可探讨不同免疫抑制方案对血小板曲线影响的变化特点。此外，本研究提出AR的诊断方法在于MPV、PDW、P-LCR三项血小板活化指标在术后第6~9天的变化趋势有显著差异，但未能给出精确的血小板活化的量化指标，只能作为诊断AR发生的一种辅助方法。

综上所述，肾移植受者术前血小板活化水平与术后AR的发生密切相关，PDW是体现血小板活化水平的重要指标。并且，术后监测MPV、PDW、P-LCR三项参数变化趋势可作为诊断AR发生的一种辅助方法。

参考文献：

[1] 严春寅, 王亮良. 肾移植急性排斥反应的早期诊断[J]. 临床外科杂志, 2007, 15(2): 85-6.

[2] Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, et al. Delayed graft function in kidney transplantation[J]. Lancet, 2004, 364(9447): 1814-27.

[3] Sola R, Alarcon A, Jimenez C, et al. The influence of delayed graft function[J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19(3): 32-7.

[4] Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. The Banff97 working classification of renal allograft pathology[J]. Kidney Int, 1999, 55(2): 713-23.

[5] Zhong CZ, Hayzer DJ, Corson MA, et al. Molecular-cloning of the rat vascular smooth-muscle thrombin receptor-evidence for invitro regulation by basic fibroblast growth-factor[J]. Biol Chem, 1992, 267(24): 16975-9.

[6] 张 勇, 管德林, 夏成青, 等. 血小板活化状态与移植肾功能恢复关系的研究[J]. 中华外科杂志, 2003, 41(12): 881-4.

[7] Zhang Y, Zhang XD, Ma LL, et al. Relationship between platelet activation and acute rejection after renal transplantation [J]. Transplant Proc, 2009, 41(5): 1547-51.

[8] 王鸿利. 实验诊断学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 70-1.

[9] 付绍杰, 郭彬彬, 于立新, 等. 血小板与肾移植术后早期移植肾功能延迟性恢复的关系[J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(7): 994-9.

[10] Okuno S, Aahida T, Ebihara A, et al. Distinct increasein hema-tocrit associated with paroxysm of atrial fibrillation[J]. Jpn Heart J, 2000, 41(5): 617-22.

[11] Lemstrom K, Koskinen P, Hayry P. Molecular mechanisms of chronic renal allografts rejection[J]. Kindney Int, 1995, 2(1): 213-4.

[12] Tu Xiaowen Zhang Aiping, Ding RH. Hemodialysis to the platelet aggregation of uremia and CD41, CD61, CD42[J]. Clin Inter, 2001, 18(2): 434-5.

[13] 嘉红云, 王忠英, 李 娟, 等. 2项联合检测作为血小板活化特异标志物的评价[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(9): 1034-5.

[14] 施嫣红, 刘嫦钦, 翁 韵, 等. 缺血性结肠炎的临床特点以及血小板功能的研究[J]. 胃肠病学, 2013, 18(4): 225-8.

[15] Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, et al. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation[J]. Hippokratia, 2010, 14(1): 28-32.

[16] 李 月, 代震宇, 张德纯. 血小板分布宽度作为新型血小板活化特异性标志物的评价[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(2): 200-2.

（编辑：孙昌朋）